

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/KR04/003169

International filing date: 03 December 2004 (03.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: KR
Number: 10-2003-0087275
Filing date: 03 December 2003 (03.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 02 February 2005 (02.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



**This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.**

출 원 번 호 : 특허출원 2003년 제 0087275 호
Application Number 10-2003-0087275

출 원 년 월 일 : 2003년 12월 03일
Date of Application DEC 03, 2003

출 원 인 : 주식회사 팬제노믹스
Applicant(s) PanGenomics Co., Ltd.

2004 년 12 월 27 일

특 허 청
COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0001
【제출일자】	2003.12.03
【발명의 명칭】	항지방화 및 항비만 활성을 갖는 박과 식물 추출물로부터 분리된 화합물을 포함하는 조성물
【발명의 영문명칭】	Composition comprising the compound isolated from an extract of Cucurbitaceae plant having anti-adipogenic and anti-obesity activity
【출원인】	
【명칭】	주식회사 팬제노믹스
【출원인코드】	1-2001-027094-7
【대리인】	
【성명】	신동인
【대리인코드】	9-2000-000156-1
【포괄위임등록번호】	2002-050561-1
【발명자】	
【성명의 국문표기】	진미림
【성명의 영문표기】	JIN,Mi Rim
【주민등록번호】	660327-2023110
【우편번호】	135-272
【주소】	서울특별시 강남구 도곡2동 타워팰리스 1차 A동 3905호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	류재하
【성명의 영문표기】	RYU,Jae Ha
【주민등록번호】	590709-1042328
【우편번호】	158-756
【주소】	서울특별시 양천구 목6동 목동6동 신시가지아파트 601동 402호
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 최현정
【성명의 영문표기】 CHOI, Hyoun Jeong
【주민등록번호】 780513-2496222
【우편번호】 406-810
【주소】 인천광역시 연수구 연수1동 479-7 동양주택 401호
【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 정형진
【성명의 영문표기】 JUNG, Hyung Jin
【주민등록번호】 730223-1079417
【우편번호】 137-042
【주소】 서울특별시 서초구 반포2동 주공아파트 210-303
【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 박경철
【성명의 영문표기】 PART, Kyoung Chul
【주민등록번호】 770504-1691811
【우편번호】 151-818
【주소】 서울특별시 관악구 봉천7동 1510-2 에이스빌 20호
【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 김선영
【성명의 영문표기】 KIM, Sun Young
【주민등록번호】 551103-1074314
【우편번호】 140-724
【주소】 서울특별시 용산구 이촌동 300-127 한강맨션아파트 18-302
【국적】 KR

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다.
대리인
신동인 (인)

【수수료】

【기본출원료】 20 면 29,000 원

【가산출원료】 12 면 12,000 원

【우선권 주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 0 항 0 원

【합계】 41,000 원

【감면사유】 소기업 (70%감면)

【감면후 수수료】 12,300 원

【첨부서류】 1. 요약서·명세서(도면)_1통 2. 소기업임을 증명하는 서류
_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 항지방화 (anti-adipogenesis) 활성 및 항비만 활성을 갖는 박과 (Cucurbitaceae) 식물의 추출물로부터 분리된 화합물을 함유하는 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 화합물은 페록시좀 증식 활성 수용체 알파 및 델타 (Peroxisome Proliferator activated Receptors alpha and delta, PPAR α & δ)를 활성화하며, 지방세포 분화 및 중성지방 억제 작용을 나타내므로 비만 또는 과도한 지질 축적으로 인한 비만, 제 2형 당뇨병, 지방간, 고지혈증, 심혈관 질환, 동맥경화증 등의 대사성 질환의 예방 및 치료를 위한 의약품 또는 건강기능식품으로 이용될 수 있다.

【대표도】

도 1

【색인어】

박과 식물, 페록시좀 증식 활성 수용체, 지방 세포, 비만, 지방, 대사성 질환

【명세서】

【발명의 명칭】

항지방화 및 항비만 활성을 갖는 박과 식물 추출물로부터 분리된 화합물을 포함하는 조성물{Composition comprising the compound isolated from an extract of Cucurbitaceae plant having anti-adipogenic and anti-obesity activity}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명의 화합물의 지방세포 분화 및 중성지방 억제 작용에 대한 효과를 나타낸 도이며,

도 2는 CMC-9의 HPLC 분석도이고,

도 3은 CMC-9의 ^1H -NMR 결과도이며,

도 4는 CMC-9의 ^{13}C -NMR 결과도이고,

도 5는 CMC-9의 HSQC 스펙트럼을 나타낸 도이며,

도 6은 CMC-9의 ^1H - ^1H COSY 스펙트럼을 나타낸 도이고,

도 7은 CMC-9의 HMBC 스펙트럼을 나타낸 도이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<8> 본 발명은 항지방화 (anti-adipogenecity) 활성 및 항비만 (anti-obesity) 활성을 갖는 박과 식물의 추출물로부터 분리된 화합물을 포함하는 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 및 치료에 유용한 조성물에 관한 것이다.

<9> 지방화 (Adipogenesis)란 미성숙지방세포 (preadipocyte)로부터 지방세포가 분화되어 지방을 축적하게 되는 과정으로서, 이는 비만 (obesity), 당뇨병 (diabetes), 지방간 (steatosis), 심장 질환 (coronary heart disease)과 같은 질병을 일으킬 수 있는 위험 요인으로 알려져 있다. 성숙한 지방 세포 (adipocytes or fat cells)는 섬유아 세포 (fibroblast)와 같은 미성숙지방세포 (preadipocytes)로부터 분화되어 궁극적으로 세포 내에 지방 방울 (lipid droplet)을 형성하게 된다. 지방세포의 분화 과정은 3T3-L1과 같은 세포를 이용하여 연구되어 왔으며, 여러 종류의 전사인자 (transcription factor)들, 특히 지방화에 관여하는 것으로 알려진 전사인자, C/EBPs (CAAT enhancer binding proteins), PPARs (Peroxisome Proliferator Activated receptor)와 ADD/SREBPs (Adipocyte determination and differentiation dependent factor1/sterol response element binding proteins) 등이 시간의 차이에 따라 발현하며 그 과정을 조절한다는 것이 알려져 있다 (Bart A Jessen et al., *Gene*, 299, pp95-100, 2002; Darlington et al., *J . Biol. Chem.*, 273, pp30057-30060, 1998; Brun R.P et al., *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 8, pp826-832, 1996) .

MDI (isobutylmethylxanthin, dexamethasone and insulin)와 같은 호르몬의 자극이 주

어질 때, C/EBP β 와 δ 가 가장 먼저, 일시적으로 발현되며, 지방세포로의 분화를 개시하게 한다 (Reusch J. E et al., *Mol. Cell. Biol.*, 20, pp1008-1020, 2000). 이는 계속해서 C/EBP α 와 PPAR γ 의 발현 증가를 유도하게 된다 (James M. N. et al., , 130, pp3122S-3126S, 2000). PPAR γ 는 특히 지방세포 분화에 중요한 전사인자로 알려져 있으며, 레티논산 X 수용체 (retinoic acid X receptor) 단백질 (RXR) 과 이합체 (dimer) 를 형성한 뒤, 다양한 지방세포 유전자의 프로모터 (promoter) 에 존재하는 PPRE (peroxisome proliferator response elements) 에 결합한다 (Tontonoz P.E et al., *Genes Dev.*, 8, pp1224-1234, 1994 ; Hwang, C. S et al., *Cell Dev. Biol.*, 13, pp873-877). PPAR γ 와 C/EBP α 의 상호 작용이 성숙한 지방세포로의 분화에 매우 결정적인데, 지방산 결합 단백질 α 2와 같은 지방세포 특이적 단백질 및 지방 대사 효소의 발현을 조절한다. 더불어 ADD1/SREBPs는 지방 대사에도 중요한 역할을 하지만, 또한 분화과정에도 관여하는 것으로 알려졌다. 미성숙 지방세포에서 ADD1/SREBP1c 가 발현되는 것은 PPAR γ 의 활성화에 기여하는 것으로 여겨진다 (Rosen E.D. et al., *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 16, pp145-171, 2000; Osborn T.F., *J. Biol. Chem.*, , pp32379-32382, 2000). 분화과정을 마친 지방세포만이 지방산 (fatty acid) 을 합성하고 중성지질 (trigly cerides) 을 저장하게 된다.

<10> 반면, 지방대사의 항상성은 지방의 생성과 분해간의 균형에 의해서 유지된다. ADD1/SREBP1은 지방생성을 조절하는 전사인자로서, 지방산, 중성지질, 콜레스테롤, 인지질 등의 합성과 흡수를 조절한다 (Horton J.D. et al.,

J. Clin. Invest., 109, pp1125-1131, 2002). SREBPs는 소포체막에 결합한 불활성 전구체로 합성되고, N 말단이 잘려나간 후, 활성화되어 핵으로 이동하게 되고 조절 유전자 프로모터의 SRE(sterol regulatory elements)에 결합하게 된다. 그 이형질체 중 SREBP1c는 중성지질의 합성을 주로 조절하는 반면, SREBP2는 콜레스테롤 합성에 관여하는 것으로 알려졌다. SREBP1c에 의해 조절되는 유전자는 ACL(ATP citrate lyase), ACC(acetyl CoA carboxylase), FAS(fatty acid synthase) 및 SCD (stearoyl-CoA desaturase) 등이다(Osborn TF et al., *J. Biol. Chem.*, 275, pp32379-32382, 2000; Soazig L. L et al., *J. Biol. Chem.*, 277, pp 35625-35634, 2002). 지방 분해를 조절하는 데는 PPAR α 가 중요한 조절을 하는 것으로 알려져 있다(Beisiegel, U., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 96, pp13656-13661, 1999). 지방산의 흡수 및 지방산 분해에는 LPL(lipoprotein lipase), 아포프로테인 (apoproteins), ACO(Acyl-CoA oxidase), 티오레이즈(thiolase) (Dreyer C et al., , 68, pp 879-887, 1992) 등이 관여한다.

<11> 비만은 소모하는 열량에 비해 과다한 열량을 섭취함으로써 여분의 열량이 체내에 지방의 형태로 축적되어지는 현상을 말한다. 비만은 유전적 영향, 서구화되는 생활에 의한 환경적인 영향, 스트레스에 의한 심리적인 영향 등 다양한 원인에 의해 유발되어지는 것으로 생각되고 있으나 아직 그 정확한 원인이나 기작에 관해서는 명확히 정립된 바가 없는 상황이다. 그러나 비만은, 비만 그 자체가 갖는 문제점뿐만 아니라, 심혈관계 질환이나 당뇨와 같은 질병의 원인으로도 작용할 수 있기 때문에 (Manson et al.,

New England J. Med., 333, pp677-685, 1995; Kopleman P.G., *Nature*, 404

pp635-643, 2000; Must et al., *JAMA*, 282, pp1523-1529, 1999) 전 세계적으로 비만 치료에 많은 관심이 모아지고 있다.

<12> 현재까지 알려진 비만치료제들 중에서 가장 대표적인 약물들로는 제니칼 (Xenical™, 로슈제약회사, 스위스), 리덕틸 (Reductil™, 애보트사 미국), 엑소리제 (Exoize™, 아코파마, 프랑스) 등이 있으나 심장질환, 호흡기 질환, 신경계질환 등의 부작용과 함께 그 효능의 지속성이 낮아, 더욱 효율적인 비만치료제의 개발이 필요한 실정이다.

<13> 현재 비만치료제 개발 전략은 식사량 감소, 열량흡수의 억제, 발열반응 촉진, 에너지 대사 조절, 신경계를 통한 신호전달 조절과 같은 것들이다 (Kopleman P.G., *Nature*, 404, pp635-643, 2000). 이러한 전략에 대하여 어느 하나 이상의 기능을 할 수 있도록 약물을 개발함으로써 비만치료에 이용하고자 하는 시도는 오랫동안 이어져오고 있으나, 아직까지 안전성과 효능을 동시에 갖고 있는 약물을 개발하는 것이 쉽지 않은 것이 현실이다.

<14> 따라서 안전성이 입증된 천연물로부터 비만 치료 전략에 부합하는 성분을 찾아 약물로써 이용하려는 시도는 합성 제제로부터 치료제를 개발하는 것에 비해 더욱 효율적인 접근방법이라 할 수 있을 것이다.

<15> 박과 (Cucurbitaceae)는 쌍떡잎식물 박목의 한 과로, 덩굴식물로서 한해살이 또는 여러해살이풀이다. 잎은 어긋나고 홀잎이거나 손바닥 모양 또는 손바닥 모양의 맥이 있으며 잎자루가 길다. 잎자루 밑동에 덩굴손이 있으며 떡잎은 없다. 열대와 아열대에 약 95속 800여 종이 분포하며, 한반도에는 새박 (

Melothria japonica), 산외 (*Schizopepon bryoniaefolius*), 돌외 () 등이 자생하고 호박·오이·수세미 등을 재배한다.

<16> 호박 (*Cucurbita moschata* DUCH.)은 박과 식물의 열매로서 맛은 달고 성질은 평범하며, 쿠커비틴 (Cucurbitine), 지방유, 단백질 및 비타민 A·B₁·B₂·C를 함유하며, 또한 카로텐도 함유한다. 지방유의 주된 성분은 리놀렌산 (linoleic acid), 올레인산 (oleic acid), 스테아린산 (stearic acid) 등의 글리세린 에스테르 (glycerin ester)이며, 약리효과로는 구충 (驅蟲) 작용이 있음이 알려져 있다 (신 민교 및 정 보섭, 향약대사전, 영림사, pp950-952, 1998) .

<17> 수박 (*Citrullus vulgaris* SCHRAD.)은 박과 식물의 열매로서 맛은 달고 성질은 차며, 수박의 과즙에는 시트룰린 (citrulline), 알라닌 (alanine), α-아미노산, 글루탐산 (glutamic acid), 아르기닌 (arginine), 사과산, 글리콜 (glycol), 아데닌 (adenine), 과당, 포도당, 비타민 C, β-카로텐 (carotene) 등이 함유되어 있다. 과육 중의 시트룰린 및 아르기닌에는 쥐 간장 중의 요소형성을 증진하여 이뇨작용을 인도하는 효능이 있다고 알려져 있다 (신 민교 및 정 보섭, 향약대사전, 영림사, pp945-947, 1998) .

<18> 수세미 (*Luffa cylindrica* (L.) ROEM.)는 박과 식물의 1년생 덩굴성식물로서 수세미 오이라고도 불리는데, 열매는 길이가 60cm에 달하며 겉에 세로 주름이 있고 안쪽에는 그물 모양의 관다발이 있는데 껍질을 벗기고 과육과 씨를 제거하면 스펀지같이 되어 이것을 목욕 및 설거지 할 때 사용하며, 가을철에 줄기의 절단면에서 나오는 수액은 화장수로 이용할 수 있다 (신민교 및 정 보섭, 향약대사전, 영림사, pp954-957, 1998) .

<19> 본 발명자들은 천연물로부터 비만 치료에 효과가 있는 성분을 찾기 위하여 다양한 식물의 효능을 검색하던 중 호박, 수박, 수세미와 같은 박과 식물의 추출물로부터 분리된 본 발명의 화합물이 항지방화 및 항비만 활성을 가짐을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

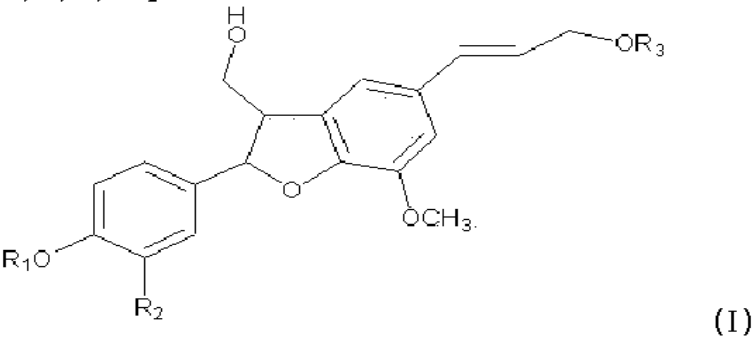
【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<20> 본 발명의 목적은 항지방화 (anti-adipogenesis) 활성 및 항비만 활성을 갖는 박과 (Cucurbitaceae) 식물의 추출물로부터 분리된 화합물을 포함하는 조성물을 제공하는 것으로서, 본 발명의 화합물은 지방 조직 및 비지방 조직의 지방의 양을 감소시킴으로서 지질대사 이상으로 발생하는 비만, 제 2형 당뇨병, 지방간, 고지혈증, 심혈관 질환, 동맥경화증과 같은 대사성 질환의 예방 및 치료에 유용하므로, 이를 유효성분으로 함유하는 의약품 또는 건강기능식품을 제공하고자 한다.

【발명의 구성 및 작용】

<21> 상기 목적에 따라, 본 발명은 항지방화 (anti-adipogenecity) 활성 및 항비만 (anti-obesity) 활성을 갖는 박과 식물의 추출물로부터 분리되거나 합성 가능한 하기 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 및 치료용 약학조성물을 제공한다.

<22> 【화학식 1】



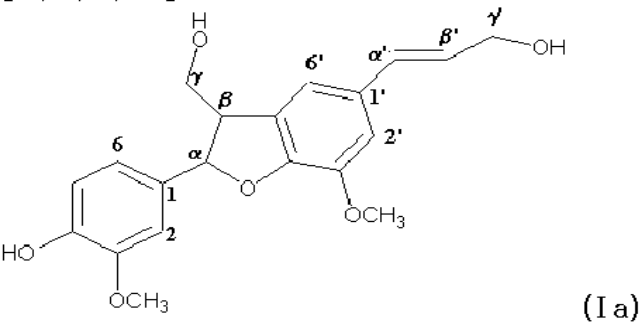
<23> 상기 식에서,

<24> R₁ 및 R₃는 각각 독립적으로 수소원자 또는 C₁ 내지 C₄의 저급 알킬기이고,

<25> R₂는 수소원자, 히드록시기 또는 C₁ 내지 C₄의 저급 알콕시기이다.

<26> 상기 일반식 (I)의 화합물 중에서 바람직한 화합물은 일반식 (I)의 화합물 중 R₁ 및 R₃가 각각 수소원자며, R₂가 C₁ 내지 C₄의 저급 알콕시기인 화합물이고, 더욱 바람직하기로는 R₁ 및 R₃가 각각 수소원자이며, R₂가 메톡시기인 하기 구조식 (Ia)의 디히드로디코니페릴 알코올 (Dehydrodiconiferyl alcohol)을 포함한다.

<27> 【화학식 2】



<28> 본 발명의 상기 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체는 당업계에서 잘 알려져 있는 공지의 합성 방법 또는 호박 (*Cucurbita moschata* DUCH.), 수박 (*Citrullus vulgaris* SCHRAD.), 수세미 (*Luffa cylindrica* ROEM.), 참외 (*Cucumis melo* L. var. *makuwa* MAKINO), 박 (*Lagenaria siceraria* STANDL. var. *depressa* HERA) 등의 박과 식물로부터 분리될 수 있으며, 바람직하게는 호박, 수박, 수세미 등의 식물로부터 분리될 수 있다.

<29> 또한, 상기 박과 식물은 뿌리, 열매, 줄기 또는 잎 등을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 박과 식물의 줄기 또는 잎을 사용할 수 있다.

<30> 상기 비만 및 지질 관련 대사성 질환은 비만, 제 2형 당뇨병, 지방간, 고지혈증, 심혈관 질환, 동맥 경화증을 포함한다.

<31> 상기 일반식 (I)으로 표기되는 본 발명의 알코올 유도체는 당해 기술분야에서 통상적인 방법에 따라 약학적으로 허용 가능한 염 및 용매화물로 제조될 수 있다.

<32> 약학적으로 허용 가능한 염으로는 유리산 (free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 산부가염은 통상의 방법, 예를 들면 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴과 같은 수혼화성 유기 용매를 사용하여 침전시켜서 제조한다. 동물량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올 (예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고 이어서 상기 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다.

<33> 이 때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, *p*-톨루엔

술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산 (maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산 (propionic acid), 구연산 (citric acid), 젖산 (lactic acid), 글리콜산 (glycollic acid), 글루콘산 (gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산 (glutaric acid), 글루쿠론산 (glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르빈산, 카본산, 바닐릭산, 히드로 아이오덕산 등을 사용할 수 있다.

<34> 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염은, 예를 들면 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리토 금속 수산화물 용액 중에 용해하고, 비용해 화합물염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로서는 특히 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하며, 또한 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리토 금속염을 적당한 은염 (예, 질산은) 과 반응시켜 얻는다.

<35> 상기의 일반식 (I) 의 약학적으로 허용 가능한 염은, 달리 지시되지 않는 한, 일반식 (I) 의 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성기의 염을 포함한다. 예를 들면, 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드록시기의 나트륨, 칼슘 및 칼륨 염이 포함되며, 아미노기의 기타 약학적으로 허용가능한 염으로는 히드로브로마이드, 황산염, 수소 황산염, 인산염, 수소 인산염, 이수소 인산염, 아세테이트, 숙시네이트, 시트레이트, 타르트레이트, 락테이트, 만델레이트, 메탄설포네이트 (메실레이트) 및 *p*-톨루엔설포네이트 (토실레이트) 염이 있으며, 당업계에서 알려진 염의 제조방법이나 제조과정을 통하여 제조될 수 있다.

<36> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

<37> 본 발명의 박과 식물의 추출물로부터 분리된 화합물은 하기와 같이 수득될 수 있다.

<38> 먼저, 본 발명의 박과 식물, 바람직하게는 호박, 수박 및 수세미의 뿌리, 열매, 줄기 또는 잎을, 더욱 바람직하게는 줄기 및 잎을 건조한 후, 박과 식물 건조 중량의 약 1 내지 25배의 부피, 바람직하게는 5배 내지 15배 분량의 물, 메탄올, 에탄올 등과 같은 저급 알코올 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물로 20 내지 100℃, 바람직하게는 70 내지 100℃의 추출온도에서 약 30 분 내지 1일 동안, 바람직하게는 30 분 내지 2시간 동안 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 추출방법, 바람직하게는 열수 추출로 1회 내지 5회 추출하여 감압여과하고 여과액은 회전진공농축기를 사용하여 감압농축하고 동결건조하여 열수 추출물로서 박과 식물 조추출물을 수득할 수 있다.

<39> 상기 박과 식물 조추출물은 물에 현탁한 후, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 순으로 용매를 이용하여 추출하여 본 발명의 박과 식물 비극성용매 가용 추출물을 수득할 수 있으며, 더욱 구체적으로는 박과 식물 조추출물에 헥산을 가하여 헥산 가용성 분획물 및 수가용성 분획물을 수득할 수 있고, 다시 상기 수가용성 분획물을 클로로포름으로 추출하여 수가용성 분획물 및 클로로포름 가용성 분획물을 수득할 수 있으며, 이 수가용성 분획물에 에틸아세테이트를 가하여 에틸아세테이트 가용성 분획물 및 수가용성 분획물을 수득할 수 있고, 마지막으로 상기 수가용성 분획물을 부탄올로 추출하여 부탄올 가용성 분획물과 수가용성 분획물을 수득할 수 있다.

<40> 또한, 상기의 제조 공정으로 수득된 박과 식물 분획물들의 항지방화 및 항비만 활성을 측정하여, 이들 중 가장 우수한 활성을 보인 클로로포름 가용성 분획물을 용

출용매로 헥산:클로로포름:메탄올 혼합용매를 사용하여 실리카겔

컬럼크로마토그래피 (Silica gel column chromatography)를 수행하여 5 내지 11개의 분획으로 분리한 후, 다시 이들 분획들의 항지방화 및 항비만 활성을 측정하여, 이들 중 가장 우수한 활성을 보인 분획 9를 용출용매로 클로로포름:메탄올 혼합용매를 사용하여 기울기 용리법으로 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행할 수 있으며, 이를 더욱 순수하게 분리하기 위하여 20 내지 70%의 메탄올을 이동상으로 하여 HPLC를 수행하여 이로부터 용출된 용출액을 합하고 농축하여 본 발명의 상기 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체 화합물을 분리할 수 있다.

<41>

본 발명의 항지방화 및 항비만 활성을 갖는 상기 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체는 통상의 치환기들의 합성 및 분획 방법을 통하여도 합성할 수 있다 (Herbert O. House: *Modern Synthetic Reactions*, 2nd Ed., The Benjamin/Cummings Publishing Co., 1972).

<42>

본 발명은 상기 제조방법으로부터 수득된 박과 식물의 추출물로부터 분리된 상기 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체를 제공한다.

<43>

본 발명의 박과 식물의 추출물로부터 분리된 상기 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체의 항지방화 및 항비만 활성을 확인하기 위하여, 지방세포 분화 및 중성지방 억제에 미치는 영향을 조사한 결과, 지방세포의 분화와 중성지방의 축적이 현저히 억제됨을 확인하였다.

<44>

본 발명의 화합물을 포함하는 약학 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

- <45> 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물은 통상의 방법에 따른 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- <46> 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- <47> 본 발명에 따른 화합물을 포함하는 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- <48> 본 발명의 화합물의 사용량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 0.1 내지 100 mg/kg의 양을 일일 1회 내지 수회 투여할 수 있다. 또한 그 화합물의 투여량은 투여경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- <49> 또한 본 발명의 박과 식물의 추출물로부터 분리된 화합물은 기타 식품의 주, 부원료 및 식품첨가제로서 사용이 가능하다.

<50> 또한 본 발명은 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 및 개선에 효과적인 화합물과 식품학적으로 허용되는 식품 보조 첨가제를 함유하는 건강기능식품을 제공한다.

<51> 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물은 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 및 개선을 위한 약제, 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능 식품류 등이 있다.

<52> 본 발명의 화합물 자체는 독성 및 부작용은 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

<53> 본 발명의 상기 화합물은 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 및 개선 효과를 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 화합물의 양, 즉 일반적으로 본 발명의 건강기능식품 조성물은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 % 중량으로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 10 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.

<54> 본 발명의 건강 음료 조성물은 지시된 비율로, 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 외에는 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물, 예를 들어 레바우

디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ㎖당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

<55>

상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

<56>

이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

<57>

단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<58>

실시예 1. 박과 식물로부터 디히드로디코니페릴 알코올 (Dehydrodiconi feryl alcohol, 이하 CMC-9로 명명)의 분리

<59>

1-1. 박과 식물의 조추출물의 제조

<60>

박과 식물 중 호박, 수박, 수세미를 인근농원에서 구입하여 각각의 줄기 및 잎을 5cm 간격으로 세절하여 건조한 후, 건조된 각각의 줄기 및 잎 10g에 100 ㎖의 증

류수를 가한 후 90 내지 100℃에서 외투막 (mantle)와 증류세트 (distilled set)를 사용하여 1 시간 동안 가열하였다. 이 과정을 3회 반복 수행한 다음 여과지로 여과하고, 여과액은 회전 진공 농축기를 사용하여 감압농축 및 동결 건조하여 각각의 호박, 수박, 수세미 줄기 및 잎 추출물을 건조 분말 형태로 수득하였으며, 각각의 추출물의 수득량은 하기 표 1에 나타내었다.

<61> 【표 1】

구분	수득량 (g)
호박 줄기 추출물	1.5
호박 잎 추출물	2
수박 줄기 추출물	1.75
수박 잎 추출물	1.8
수세미 줄기 추출물	1.2
수세미 잎 추출물	1.45

<62> 1-2. 호박 줄기 분획물의 제조

<63> 상기 실시예 1-1 단계에서 얻은 호박 줄기 조추출물 200g을 물 1ℓ에 현탁시킨 후, 헥산 1ℓ를 첨가하여 용해한 다음 이를 헥산층에 용해되는 성분만 분리하여 진공 건조하였다. 이 과정을 3회 반복 수행하여 헥산 가용 분획물을 180mg을 수득하였다. 남은 수층에 클로로포름 1ℓ를 첨가하여 클로로포름층에 용해되는 성분만 분리하여 진공건조하였다. 이 과정을 3회 반복 수행하여 클로로포름 가용 분획물을 770mg을 수득하였으며, 남은 수층에 에틸아세테이트 1ℓ를 첨가하여 에틸아세테이트층에 용해되는 성분만 분리하여 진공건조하였다. 이 과정을 3회 반복 수행하여 에틸아세테이트 가용 분획물을 2.1g을 수득하였으며, 상기와 동일한 방법으로 수행하여 부탄올 가용

분획물 7.4g을 수득하고, 마지막으로 남은 수층을 감압농축하여 수층 분획물을 수득하였다.

<64> 1-3. 디히드로디코니페릴 알코올 (Dehydrodiconiferyl alcohol, 이하 CMC-9로 명명)의 분리

<65> 상기 실시예 1-2단계에서 얻은 호박 줄기의 클로로포름 가용분획 770mg을 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 수행하였다. 실리카겔 (Merck사, 제품 9385) 25g을 내경 3cm, 길이 27cm 컬럼에 충전하여 사용하였으며, 이동상으로 헥산: 클로로포름: 메탄올 혼합용매 (16:15:1)를 사용하여 용출하였다. 얻어진 컬럼 분획은 분획-1 (31 mg), 분획-2 (18 mg), 분획-3 (65 mg), 분획-4 (18 mg), 분획-5 (54 mg), 분획-6 (75 mg), 분획-7 (39 mg), 분획-8 (200 mg), 분획-9 (20 mg), 분획-10 (163 mg), 분획-11 (64 mg) 등 11개의 분획으로 분리되었으며, 이들 분획 중 활성이 가장 우수한 분획-9를 실리카겔 (Merk 9385) 2g, 이동상으로 클로로포름: 메탄올 혼합용매를 사용하여 기울기 용리법으로 (30:1부터 10:1 까지 각 150 mL) 다시 용출하였다. 얻어진 용출액을 분리조건으로 컬럼 μ -본다팩 C18 (μ -Bondapak C18, Waters, 7.8 x 300mm), 이동상으로 40% 메탄올 (유속: 2mL/분) 및 254nm의 UV 검출기를 이용하여 HPLC를 수행하여, 본 발명의 디히드로디코니페릴 알코올 (Dehydrodiconiferyl alcohol) 화합물을 분리하였다.

<66> **실시예 2. 화합물의 구조 결정**

<67> 상기 실시예 1-3 단계에서 분리된 화합물에 대하여 EI Mass(JMS 700 Mstation)를 실시하여 측정한 결과 분자량이 358로 확인되었으며, ¹H-NMR, ¹³C-NMR(Varian INOVA 400, 400MHz, NMR)을 실시하였으며, 참고문헌(Kuroda et al., *J. Agric. Food Chem.*, 50, pp 3396-3400, 2002)과 비교하여 동정한 결과, 디히드로디코니페릴 알코올(Dehydrodiconiferyl alcohol) 화합물임을 확인할 수 있었다(도 2 내지 도 7참조).

<68> 디히드로디코니페릴 알코올(Dehydrodiconiferyl alcohol)

<69> 분자식 : C₂₀H₂₂O₆

<70> ¹H-NMR (400 MHz, acetone-d₆) , d 3.53 (1H, d, J=6.8 Hz, b-H) , 3.82 (3H, s, OCH₃) , 3.86 (3H, s, OCH₃) , 3.81 (1H, dd, J=11.2, 6.8 Hz, g-H) , 3.90 (1H, J=11.2, 5.2 Hz, g-H) , 4.20 (2H, dd, J=5.20, 1.6 Hz, g'-H₂) , 5.56 (1H, d, J=6.8 Hz, a-H) , 6.24 (1H, dt, J=16.0, 5.2 Hz, b'-H) , 6.53 (1H, dt, J=16.0, 1.6 Hz, a'-H) , 6.81 (1H, d, J=8.0 Hz, 5-H) , 6.88 (1H, dd, J=8.0, 2.2 Hz, 6-H) , 6.95 (1H, d, J=1.6 Hz, 2'-H) , 6.98 (1H, d, J=1.6 Hz, 6'-H) , 7.04 (1H, d, J=2.0 Hz, 2-H) .

<71> ¹³C-NMR (100 MHz, acetone-d₆) , d 54.74 (C-b) , 56.21 (OCH₃) , 56.32 (OCH₃) , 63.35 (C-g') , 64.56 (C-g) , 88.49 (C-a) , 110.43 (C-2) , 111.62 (C-2') , 115.62 (C-5) , 116.04 (C-6') , 119.54 (C-6) , 128.34 (C-b') , 130.37 (C-a') , 130.47 (C-5') , 131.89 (C-1') , 134.35 (C-1) , 145.22 (C-3') , 147.41 (C-4) , 148.43 (C-3) , 149.02 (C-4')

<72> 실험예 1. 지방세포 분화 및 중성지방 억제 효과 측정

<73> 상기 실시예 1-3 단계에서 수득된 본 발명의 화합물 (CMC-9) 의 지방세포 분화 및 중성지방 억제 효과를 알아보기 위하여, 이를 시료로 하여 하기와 같은 실험을 실시하였다.

<74> 지방세포 (3T3-L1) 는 ATCC (American Tissue Culture Collection, USA)로부터 구입하여 준비하였으며, 10% FBS를 첨가한 RPMI 배지에서 배양하였다. 지방세포로 분화하기 위하여 MDI (isobutylmethylxanthin, dexamethason , insulin) 칵테일 (cocktail)을 처리하였으며, 이를 후에 배지를 교체하고, 인슐린 (insulin)만을 처리하였다. 이틀마다 배지를 교체하였으며 교체시 인슐린을 같은 농도로 다시 처리하여 주었다. MDI를 이용하여 지방세포의 분화를 유도할 당시에 2.5 - 1000 ug/ml의 농도로 처리하였으며, 배지 교체시에 같은 농도로 처리하여 주었다. 대조군에는 트로글리타존 (Troglitazone, TZD, 10uM)을 처리해주었고, 시료군에는 각각 상기 실시예 1-3에서 얻은 CMC-9를 100ug/ml의 농도로 처리하였다. 이 후 8일이 경과하였을 때, 분화된 세포 내에 축적된 지방의 양은 오일 레드 오 (Oil Red O) 염색법에 의하여 염색하고, 흡광도 (Optical Density)를 이용하여 정량하였다.

<75> 실험결과, 미성숙 지방세포 3T3-L1에 MDI를 처리하면, 지방세포로 분화가 유도되어 중성지방이 축적된 것을 확인하였으며, 이때 대조군으로 10 uM의 트로글리타존 (Troglitazone, TZD, 시그마)을 처리해 준 군에서는 중성지방이 더욱 많이 생성되어 붉은 색의 강도가 더해졌으며, 10uM의 SB203580를 처리해 준 군에서는 중성지방이 생성되지 않은 것을 확인하였다. 또한, 본 발명의 CMC-9를 처리한 경우 용량에 비례하

여 지방 세포의 분화와 중성지방의 축적이 현저히 억제됨을 확인할 수 있었다 (도 1 참조).

<76> 실험예 2. PPARs의 활성화 작용 측정

<77> 본 발명의 CMC-9가 페록시좀 증식 수용체 (PPARs)의 활성을 조절 할 수 있는지 조사하기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다. CV-1 세포에 tkPPRE 루시퍼레이즈 리포터 플라스미드만을 형질 전환한 군과 리포터 플라스미드와 PPAR 알파, 베타, 또는 감마를 발현하는 벡터를 동시에 형질 전환시킨 다음, 24시간 후에 이를 처리하여 주고 24시간 후에 세포를 수확하여 루시퍼레이즈 활성을 측정하였다. 대조약물로는 PPAR 알파인 경우에 파이버레이트 (fibrate, F6020-100G)를 100uM의 농도로 처리하였으며, 베타 및 델타의 경우 GW501516을 100uM의 농도로 사용하였으며, 감마의 경우에는 트로글리타존 (Troglitazone, T2573)을 100uM의 농도로 사용하였다.

<78> 실험결과, 본 발명의 CMC-9 화합물은 유의성있는 활성을 나타내었다.

<79> 본 발명의 화합물을 포함하는 약학조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

<80> 제제예 1. 산제의 제조

<81>	CMC-9	20 mg
<82>	유당	100 mg

<83>	탈크	10 mg
------	----	-------

<84> 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

<85> 제제예 2. 정제의 제조

<86> CMC-9 10 mg

<87> 옥수수전분 100 mg

<88> 유당 100 mg

<89> 스테아린산 마그네슘 2 mg

<90> 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

<91> 제제예 3. 캡셀제의 제조

<92> CMC-9 10 mg

<93> 결정성 셀룰로오스 3 mg

<94> 락토오스 14.8 mg

<95>	마그네슘 스테아레이트	0.2 mg
------	-------------	--------

<96> 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

<97> 제제예 4. 주사제의 제조

<98>	CMC-9	10 mg
<99>	만니톨	180 mg
<100>	주사용 멸균 증류수	2974 mg
<101>	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	26 mg
<102>	통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.	

<103> 제제에 5. 액제의 제조

<104>	CMC-9	20 mg
<105>	이성화당	10 g
<106>	만니톨	5 g
<107>	정제수	적량
<108>	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.	

<109> 제제에 6. 건강 음료의 제조

<110>	CMC-9	100 mg
<111>	비타민 C	15 g
<112>	비타민 E (분말)	100 g

<113>	젖산철	19.75 g
<114>	산화아연	3.5 g
<115>	니코틴산아미드	3.5 g
<116>	비타민 A	0.2 g
<117>	비타민 B ₁	0.25 g
<118>	비타민 B ₂	0.3g
<119>	물	정량

<120> 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

<121> 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

【발명의 효과】

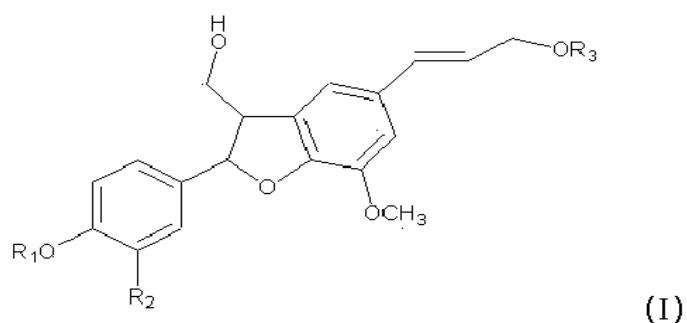
<122> 상술한 바와 같이, 본 발명의 호박, 수박, 수세미 등의 박과 식물의 추출물로부터 분리된 화합물은 항지방화 활성 및 항비만 활성을 가지며, 지방세포 분화 및 중성지방 억제 작용을 나타내고, 특히 지방의 산화 과정을 조절하는 중요한 전사인자로 알려진 페록시좀 증식 활성 수용체 알파 및 델타를 활성화하여 미성숙 지방 세포의 지방화 작용을 차단하고 지방의 분해를 촉진하므로, 과도한 지질 축적으로 인한 비만

, 제 2형 당뇨병, 지방간, 고지혈증, 심혈관 질환, 동맥경화증 등의 대사성 질환의 예방 및 치료를 위한 의약품 또는 건강기능식품으로 이용될 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

하기 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체 또는 이의 약리학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방 및 치료용 약학조성물:



상기 식에서,

R_1 및 R_3 는 각각 독립적으로 수소원자 또는 C_1 내지 C_4 의 저급 알킬기이고;

R_2 는 수소원자, 히드록시기 또는 C_1 내지 C_4 의 저급 알콕시기이다.

【청구항 2】

제 1항에 있어서, 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체 화합물은 디히드로디코니페릴 알코올 (Dehydrodiconiferyl alcohol)인 약학조성물.

【청구항 3】

제 1항에 있어서, 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체는 호박 (*Cucurbita moschata* DUCH.), 수박 (*Citrullus vulgaris* SCHRAD.), 수세미 (*Luffa cylindrica* ROEM.), 참외 (*Cucumis melo* L. var. *makuwa* MAKINO), 박 (*Lagenaria siceraria* STANDL. var. *depressa* HERA) 등의 박과 식물로부터 분리됨을 특징으로 하는 약학조성물.

【청구항 4】

제 3항에 있어서, 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체는 호박, 수박, 수세미로부터 분리됨을 특징으로 하는 약학조성물.

【청구항 5】

제 3항에 있어서, 박과 식물의 줄기 또는 잎을 사용함을 특징으로 하는 약학조성물.

【청구항 6】

제 1항에 있어서, 상기 비만 및 지질 관련 대사성 질환은 비만, 제 2형 당뇨병, 지방간, 고지혈증, 심혈관 질환, 동맥 경화증인 약학조성물.

【청구항 7】

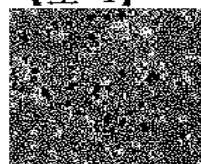
비만 및 지질 관련 대사성 질환의 예방효과를 나타내는 제 1항의 일반식 (I)으로 표기되는 알코올 유도체 및 식품학적으로 허용되는 식품 보조 첨가제를 함유하는 건강기능식품.

【청구항 8】

제 7항에 있어서, 건강음료인 건강기능식품.

【도면】

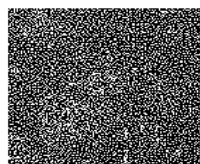
【도 1】



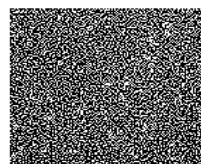
대조군



TZD

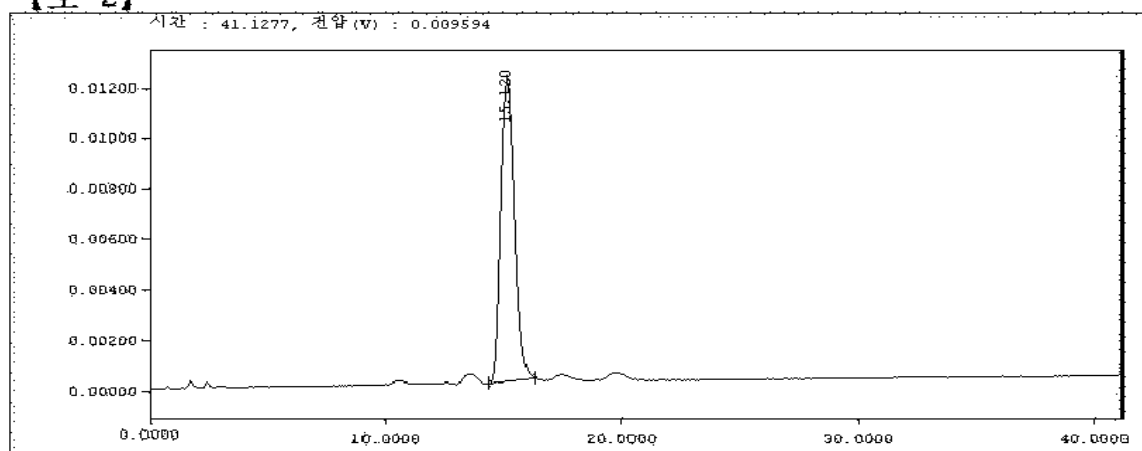


SB

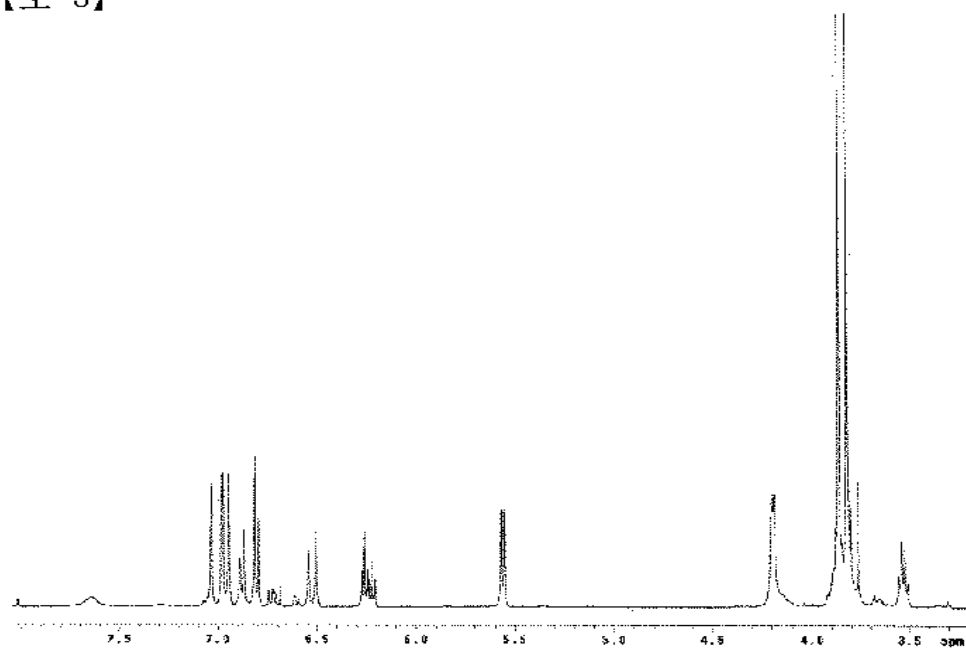


CMC-9

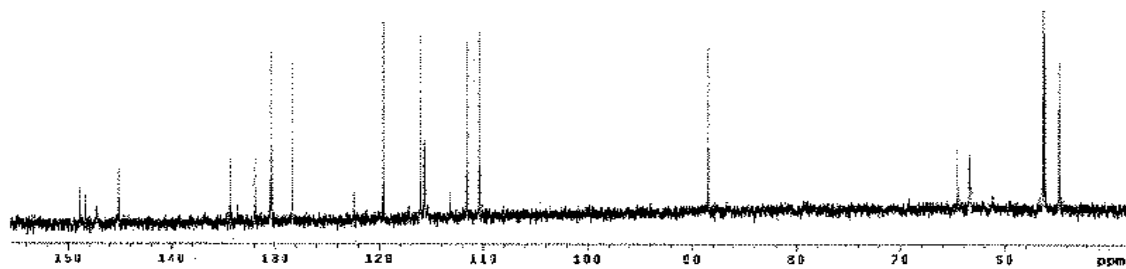
【도 2】



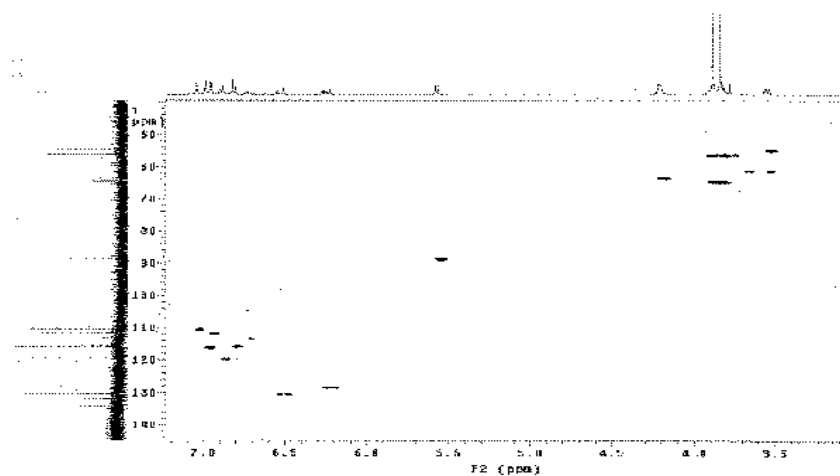
【도 3】



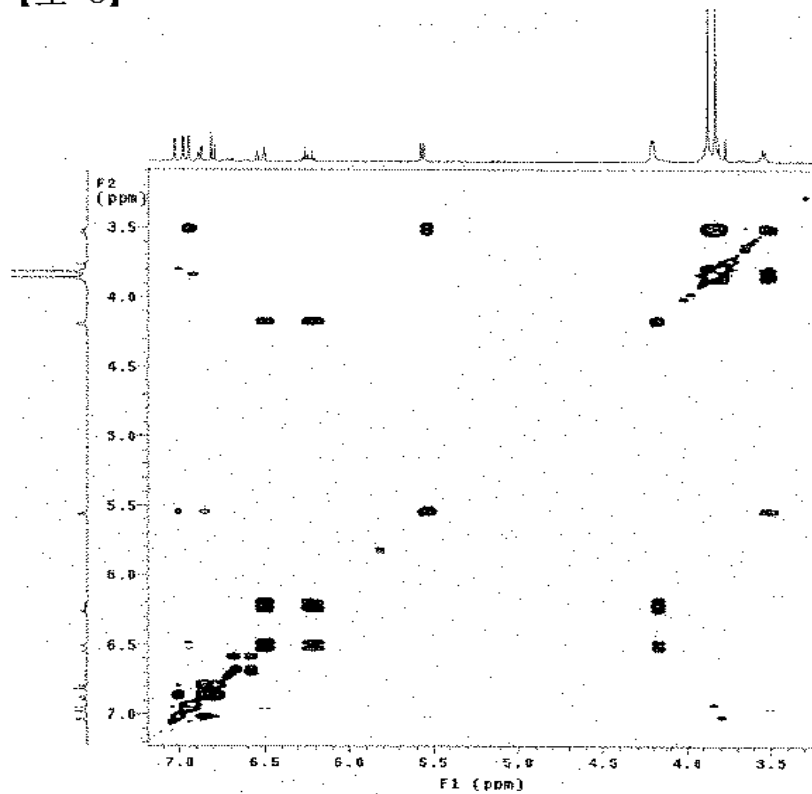
【도 4】



【도 5】



【도 6】



【도 7】

